Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski
der Universität Tübingen

Das Verhalten von Parametern der Glycolyse und des Citratcyclus im Gehirn von Meerschweinchen mit Schädel-Hirn-Trauma unter dem Einfluß von Dexamethason

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Eckhard Göritz
aus Eberswalde

1981

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski
der Universität Tübingen

Das Verhalten von Parametern der Glycolyse und des Citratcyclus im Gehirn von Meerschweinchen mit Schädel-Hirn-Trauma unter dem Einfluß von Dexamethason

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Eckhard Göritz
aus Eberswalde

1981

Dekan:	Professor Dr. med. G. Rassner
1. Berichterstatter:	Professor Dr. med. J. Hausdörfer
2. Berichterstatter:	Professor Dr. rer. nat. W. Heller

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

REFO-DRUCK HANS VOGLER TÜBINGEN

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methode	3
	1. Untersuchungsmaterial	3
	2. Narkose	4
	3. Traumatisierung	4
	4. Zeitlicher Ablauf und Medikation	4
	5. Präparation	5
	6. Laborbestimmungen	6
	7. Statistik	7
	8. Fehlerdiskussion	8
III.	Ergebnisse	10
	1. Allgemeiner Teil	10
	2. Darstellung der Einzelergebnisse	11
IV.	Diskussion	13
	1. Trauma	13
	2. Narkose	13
	3. Änderungen im Metabolismus	14
V.	Zusammenfassung	20
VI.	Graphische Darstellung	21
VII.	Tabellarische Übersicht	25
VIII.	Literaturverzeichnis	26

I. Einleitung

Seit Galicich und French 1959 mit ihren Untersuchungen auf die Wirksamkeit von Glucokortikoiden zur Behandlung des Hirnödems unterschiedlicher Genese hingewiesen haben (GALICICH et al. 1961), hat sich diese Therapieform im klinischen Alltag bei Schädel-Hirn-traumatisierten Patienten weitgehend durchgesetzt (BOUZARTH et al. 1974, DIEMATH 1975, SUCHENWIRTH 1978). Im Gegensatz zu diesen klinischen Erfahrungen stehen die unterschiedlichen Ergebnisse in neuen tierexperimentellen Arbeiten, die sowohl Wirkungslosigkeit als auch gute therapeutische Wirkungen von Glucokortikoiden bei der Therapie des cerebralen Traumas nachweisen (TORNHEIM et al. 1978). Diese Diskrepanz erklärt schon BENSON (1970) durch unterschiedliche Versuchsbedingungen. Dabei sind zu nennen

a) die Art der Traumatisierung
b) die Applikationszeit und die Dosis der Glucokortikoide
c) der unterschiedliche Metabolismus der einzelnen Spezies
d) die Größe des Gehirns und der Anteil an weißer Hirnsubstanz.

Überprüft man die Arbeiten, die keinen Erfolg der Glucokortikoidtherapie nachweisen konnten (NELSON et al. 1974, KOPCZYNSKI et al. 1975, DICK et al. 1976) im Hinblick auf die angeführten Kriterien, so zeigt sich, daß die negativen Ergebnisse aus der Versuchsanordnung resultieren könnten und nicht ausreichen, um die Wirkungslosigkeit von Glucokortikoiden bei der Therapie des Schädel-Hirn-Traumas zu beweisen. Viele der bisherigen Arbeiten beurteilen den Therapieerfolg an morphologisch-histologischen Kriterien (KLATZKO 1972). Des weiteren wird versucht, den Effekt der Glucokortikoidtherapie anhand der Veränderung des spezifischen Gewichts (CLASEN et al. 1965), der Wasserverteilung (DIEMATH 1975), sowie der Ionenverschiebung (BENSON et al. 1970)

im Gehirn zu beurteilen. Wegen der unterschiedlichen Wirkung der einzelnen Glucokortikoidderivate auf den Mineralhaushalt neben anderen spezifischen Stoffwechselwirkungen erlangen diese Untersuchungen nur bedingte Aussagefähigkeit.

Daß Glucokortikoide auf den Stoffwechsel, speziell auf den Kohlenhydratmetabolismus Einfluß haben, ist bekannt; jedoch sind kaum Ansätze formuliert, um den Metabolismus der Glucose, des Hauptenergieträgers für das Gehirn, unter Dexamethasoneinfluß zu beschreiben.

BOUZARTH et al. (1974) beschreiben den durch Dexamethason bedingten Anstieg Blutglucose und sehen neben anderen Effekten hierin eine Erklärung für die therapeutische Wirkung beim Schädel-Hirn-Trauma.

HAUSDÖRFER (1977) weist die Veränderungen einiger Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels nach Schädel-Hirn-Traumen im Serum nach.

REICHERT (1978) bestimmt die Aktivität von Enzymen, die die traumatisch geschädigte Blut-Hirn-Schranke passiert haben, im peripheren Blut.

Da jedoch der Rückschluß von Veränderungen im Blut auf die Verhältnisse im Gehirngewebe nicht ohne weiteres möglich ist, werden in der vorliegenden Arbeit die Auswirkungen der Dexamethasontherapie auf die Glykolyse und den Citrat-Cyclus im Gewebe untersucht. Als Parameter dienen 2-Phosphoglycerat, Phosphoenolpyruvat, die Pyruvatkinase, Isocitrat und Malat.

II. Material und Methode

1. Untersuchungsmaterial

Als Versuchstiere dienen insgesamt 160 ausgewachsene Meerschweinchen. Eine besondere Berücksichtigung des Geschlechts sowie bestimmter Rassen erscheint nicht nötig, jedoch finden Tiere mit einem Körpergewicht unter 700 g keine Verwendung, da sich bei ihnen eine zu hohe Letalitätsrate ergibt. Die Verteilung auf die einzelnen Versuchsgruppen erfolgt gemäß Tabelle 1.

Tab. 1:

Gruppe	I	II	III	IV	V
Durchschn.-gew. (g)	882	870	830	862	798
Ges.-Zahl	33	35	36	36	20
Tod durch Narkose o. Trauma	5	6	7	5	17
ausgewertete Tiere	28	29	29	31	

I Traumatisiert, keine Therapie, Substratbestimmung

II Traumatisiert, Therapie, Substratbestimmung

III Traumatisiert, keine Therapie, Enzymbestimmung

IV Traumatisiert, Therapie, Enzymbestimmung

V Vorserie zur Ermittlung der Narkosedosis, des Präparierverfahrens sowie der laborchemischen Aufbereitung

Die Bestimmung der Substrate und des Enzyms erfordert zwei Serien, da die durchschnittlich gewonnene Menge an Gehirngewebe lediglich 3,2 g beträgt. Dies reicht jedoch nicht aus, um alle Parameter aus einem Gehirn zu bestimmen.
Des weiteren eignet sich die Aufarbeitungsmethode zur Substratbestimmung nicht für die Enzymbestimmung (vgl. 6. Laborbestimmungen). Auf eine eigene Bestimmung von Normalwerten ohne Trauma und ohne Dexamethasontherapie

wird verzichtet, da diese der Literatur entnommen werden können (BERGMEYER 1974), und somit die Durchführung zweier weiterer Versuchsserien mit je 30 Tieren nicht gerechtfertigt erscheint.

2. Narkose

Als Narkotikum findet Pentobarbital-Natrium (Nembutal^{R}) Verwendung, in Kopftieflage intraperitoneal injiziert. Im Vorversuch ergibt sich für das Trauma die günstigste Dosis mit 3 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht, verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung auf ein Volumen von 3 ml. Um die Kalotte zu eröffnen, erscheinen 6 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht notwendig.

3. Traumatisierung

Die Narkose wird als ausreichend tief angesehen, wenn der Kornealreflex nicht mehr ausgelöst werden kann. Ein energetisch genau definiertes, standardisiertes Trauma kann mit dem von REICHERT (1978) beschriebenen Apparat erzeugt werden. Durch die mechanische Applikation von 3 x 1,5 J im Abstand von je 5 Minuten, werden traumatische Effekte im Sinne einer Contusio Cerebri erzielt (HAUSDÖRFER 1977). Nach Applikation des Traumas werden die Tiere in Halbseitenlage in Einzelkäfigen bei einer Raumtemperatur von 26^{o} C gehalten.

4. Zeitlicher Ablauf und Medikation

Um den Einfluß der circadianen Rhythmik auf den Stoffwechsel weitgehend auszugleichen, müssen die einzelnen Manipulationen stets zu gleichen Tageszeiten ausgeführt werden. Die Tiere bleiben 12 Stunden vor Versuchsbeginn ohne Futter, haben jedoch freien Zugang zum Wasser. Der Versuchsablauf unterscheidet sich in den einzelnen Gruppen nur dadurch, daß zwei Gruppen (II und

IV) Dexamethason (Fortecortin^{R}), die beiden anderen Gruppen (I und III) ein gleiches Volumen an physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal appliziert bekommen, wie es in der folgenden Übersicht wiedergegeben wird.

Gruppe I und III

13.00 h Kennzeichnen, Wiegen, Protokollieren
3 ml 0,9 % NaCl i. p.

19.00 h 3 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht verdünnt mit 0,9 % NaCl i. p.
Traumatisieren: 3 x 1,5 J im Abstand von je 5 Minuten nach Eintritt der Narkose

7.00 h 6 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht i. p.
Entnahme des Gehirns nach Eintritt der Narkose

Gruppe II und IV

13.00 h Kennzeichnen, Wiegen, Protokollieren
0,1 mg Dexamethason/100 g Körpergewicht verdünnt mit 0,9 % NaCl auf 3 ml i. p.

19.00 h 3 mg Nembutal^{R} und 0,2 mg Dexamethason/100 g Körpergewicht verdünnt mit 0,9 % NaCl auf 3 ml i. p.
Traumatisieren: 3 x 1,5 J im Abstand von je 5 Minuten nach Eintritt der Narkose

7.00 h 6 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht i. p.
Entnahme des Gehirns nach Eintritt der Narkose

5. Präparation

Die Entnahme des Gehirns erfolgt am lebenden, ausreichend narkotisierten Versuchstier. Postmortale Veränderungen der Stoffwechselsituation müssen weitgehendst

vermieden werden. Hierzu werden die Tiere mittels Kanülen durch die extendierten Extremitäten auf einer Korkplatte in Bauchlage fixiert. Um die Konvexität des Gehirns unversehrt in ihrer Gesamtheit darzustellen, muß mittels eines T-förmigen Hautschnittes zunächst die Kalotte freipräpariert werden. Dazu wird durch Palpation der dorsale Rand des Foramen Magnum bestimmt. Hier erfolgt ein querer Einschnitt bis weit nach lateral in den Halsbereich. Sodann durchtrennt ein medianer Schnitt die Kopfhaut bis zwischen die Augen. Die so entstehenden beiden Dreiecke in der Kopfhaut können jetzt unter Abtrennung vom Schädeldach nach lateral geklappt werden. Mit einer kräftigen Verbandschere wird durch das Foramen Magnum eingestochen, die Schere flach unter dem Knochen nach vorn geschoben und mit einem medianen Schnitt die Kalotte bis an den Rand der Orbita gespalten. Durch zwei weitere Knochenschnitte am Orbitarand entlang nach lateral, läßt sich das Schädeldach in zwei Hälften abheben. Ein stumpfer Löffel, von frontal her unter das Gehirn eingebracht und nach dorsal vorgeschoben, wo er im Bereich der Medulla Oblongata das Rückenmark abtrennt, ermöglicht es, das Gehirn im Ganzen zu gewinnen. So kann das Gewebe in kürzester Zeit in einen mit flüssigem Stickstoff gefüllten Becher eingebracht und tiefgefroren werden.

6. Laborbestimmungen

Die Bestimmung der einzelnen Parameter erfolgt nach den in der Literatur beschriebenen Verfahren (BERGMEYER 1974). Zur Aufarbeitung wird das bei -170° C tiefgefrorene Gewebe unter Zugabe von flüssigem Stickstoff im Mörser homogenisiert. Nach Abdampfen des überschüssigen Stickstoffs werden die Proben zur Bestimmung der Substrate mit Trifluoressigsäure enteiweißt, zur Bestimmung der Enzymaktivitäten in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Nach zehnminütigem Stehen im Eisbad

ist in den Proben gleiche Temperatur hergestellt. Anschließend werden in der auf 0° C vorgekühlten Zentrifuge die Gewebereste bei 4 000 UpM abgetrennt, der Überstand der Substratproben wird abpipettiert, neutralisiert oder auf den erforderlichen pH-Wert eingestellt und erneut zentrifugiert. Zur Enzymaktivitätsbestimmung kann der Überstand direkt eingesetzt werden.
Folgende Ansätze erfahren geringfügige Modifikationen der von Bergmeyer beschriebenen Aufarbeitung.
Isocitrat und Malat werden aus dem halbierten Ansatz bestimmt, während die Probenmenge für die Phosphoenolpyruvat- und 2-Phosphoglyceratbestimmung verdoppelt werden. Generell wird die bei Bergmeyer eingesetzte Probenmenge von 1 ml Serum durch 1 g Gewebe, unter Berücksichtigung der entstehenden Verdünnung, ersetzt.
Bei der Bestimmung von Isocitrat wird eine weitere Variation notwendig, da nach Zugabe der Isocitratdehydrogenase eine weiße Trübung auftritt, die erst nach ansäuern wieder verschwindet. Da eine exakte photometrische Bestimmung der Extinktion in der trüben Meßflüssigkeit nicht möglich ist, wird sofort nach Ablauf der Reaktion mit 1 N HCl angesäuert und unverzüglich der Extinktionswert abgelesen. Dieses Verfahren erweist sich als zulässig, da sich hierdurch das Absorptionsmaximum von NADPH bei 273 nm nicht verändert.

7. Statistik

Um die gefundenen Veränderungen der Parameter beurteilen zu können, werden zunächst Mittelwert, Standardabweichung und Varianz bestimmt.* Die Signifikanz der Veränderungen unter Dexamethasontherapie läßt sich mit Hilfe des t-Tests ermitteln. Als Irrtumswahrscheinlichkeit gelten 1 % bzw. 5 %.
Da die Voraussetzung der Varianzgleichheit für den t-Test nicht immer gegeben ist, wird die modifizierte

---

* Ich danke Herrn Prof. Dr. K. Dietz für die Erstellung eines Rechenprogramms.

Form des t-Tests für ungleiche Varianzen benützt (PFLANZAGL 1972 und 1974). Mit Hilfe von Wahrscheinlichkeitspapier lassen sich die Meßwerte auf ihren Verteilungscharakter überprüfen. Unter Berücksichtigung der relativ geringen Anzahl von Tieren in jeder Stichprobe, kann das Vorliegen von Normalverteilungen angenommen werden.

8. Fehlerdiskussion

a) Narkose

Das unterschiedliche Ansprechen der Tiere auf das Narkotikum ermöglicht es nicht, in allen Fällen im gleichen Zeitraum eine gleich starke Muskelrelaxation zu erzielen. Der unterschiedlich ausgeprägte Resttonus der Muskulatur verursacht Abweichungen in der Intensität des mechanisch gesetzten Traumas.

b) Probenentnahme

Aus der unterschiedlichen Narkosetiefe resultieren unterschiedliche Kreislaufverhältnisse. So zeigen Tiere mit weniger tiefer Narkose eine periphere Vasodilatation, die mit zunehmender Narkosetiefe schnell in periphere Vasokonstriktion umschlägt. Die Vasodilatation erzeugt eine verstärkte Blutungsneigung in das Präparationsgebiet, so daß eine unterschiedlich starke Verunreinigung des Gehirngewebes mit Blut auftritt. Geringfügige zeitliche Unterschiede treten zwischen der Entnahme des Gehirns und dem Einbringen in flüssigen Stickstoff auf.

c) Probenaufarbeitung

Der größte Fehler tritt bei der Einwaage des tiefgefrorenen Gewebes auf. Durch die Hygroskopie des Gewebes bedingt, lagert sich der Probe unterschiedlich viel Wasser aus der Luft durch Kondensation und Reifbildung an, so daß kein Trockengewebe gemäß der Definition zur

Aufarbeitung vorliegt. Die Größe dieses Fehlers wird auf bis zu 20 % geschätzt.

d) Laborbestimmung

Hier treten die üblichen Fehler durch Ungenauigkeiten bei der Einwaage der Reagentien sowie beim Pipettieren auf, während Ablesefehler durch die graphische Registrierung der Extinktionsänderungen ausgeschlossen werden können.

III. Ergebnisse

1. Allgemeiner Teil

Bei einer Anzahl von Tieren treten als Folge des Traumas Schädelfrakturen und Blutungen aus dem Nasen-Rachen-Raum auf. Die absoluten und prozentualen Häufigkeiten dieser Beobachtungen sowie die Letalität in den Gruppen I bis IV sind in Tabelle 2 dargestellt, wobei sich die Angaben über Frakturen und Blutungen auf die überlebenden Tiere beziehen.

Tab. 2:

Gruppe	I	II	III	IV
Frakturen	18 ≙ 55 %	15 ≙ 43 %	20 ≙ 56 %	19 ≙ 53 %
Blutungen	10 ≙ 30 %	9 ≙ 26 %	11 ≙ 31 %	10 ≙ 28 %
Letalität	5 ≙ 15 %	6 ≙ 17 %	7 ≙ 19 %	5 ≙ 14 %

Die primären Ursachen der Letalität können im Einzelfall nicht ermittelt werden. In Frage kommen

1. Auswirkungen der Narkose:
   - Dämpfung der Atmung
   - Temperaturregulationsstörungen
   - Veränderungen der Kreislaufregulation
2. Folgen des Traumas:
   - Intracranielle Blutungen
   - Blutungen in die Atemwege

Insbesondere in der Kombination von Verlegung der Atemwege durch Blut und Dämpfung des Atemantriebs wird eine Ursache für die Letalität gesehen. Da bei keinem der verstorbenen Tiere injektionsbedingte Verletzungen im Bauchraum festgestellt werden können, entfällt diese Möglichkeit als Ursache für die Letalität.

Die Beobachtung der Tiere nach dem Trauma ergibt eine Narkosedauer von durchschnittlich 6 Stunden, wobei der erste Aufstehversuch als Narkoseende gewertet wird. Eine Reduzierung der Narkosedosis ist jedoch nicht möglich,

ohne die Narkosetiefe in nicht vertretbarer Weise zu verringern. Als Ursache hierfür müssen die Resorptionsbedingungen aus dem Peritoneum angenommen werden. Eine direkte positive Wirkung der Dexamethasontherapie, wie eine schnellere Erholung, oder eine kürzere Zeitspanne bis zur Wiedererlangung des Bewußtseins kann im Gegensatz zu anderen Untersuchungen (REICHERT 1978) nicht festgestellt werden.

2. Darstellung der Einzelergebnisse

Pyruvatkinase (EC 2.7.1.40)

Die Aktivität der Pyruvatkinase beträgt bei den nicht therapierten Tieren im Mittel 3,23 $\pm$ 1,46 U/Kg und senkt sich unter Dexamethasontherapie auf eine mittlere Aktivität von 2,17 $\pm$ 1,90 U/Kg. Diese Differenz erweist sich als statistisch signifikant ($p \leq 0{,}02$). (Vgl. Abb. 2)

Isocitrat

Die therapierten Tiere zeigen einen mittleren Gehalt an Isocitrat im Gehirngewebe von 0,044 $\pm$ 0,079 mMol/Kg und weisen damit gegenüber den unbehandelten Tieren mit einem Mittelwert von 0,083 $\pm$ 0,036 mMol/Kg einen statistisch signifikanten Unterschied auf ($p \leq 0{,}001$). (Vgl. Abb. 3)

Malat

Trotz eines Absinkens des mittleren Gehalts an Malat unter der Therapie von 0,15 $\pm$ 0,06 mMol/Kg auf 0,14 $\pm$ 0,03 mMol/Kg läßt sich kein statistisch signifikanter Unterschied nachweisen. (Vgl. Abb. 4)

Phosphoenolpyruvat

Der Gehalt an Phosphoenolpyruvat sinkt unter der Therapie von durchschnittlich 13,99 $\pm$ 3,87 x 10^{-3} mMol/Kg auf Mittelwerte von 12,73 $\pm$ 6,32 x 10^{-3} mMol/Kg ab.

Diese Differenz zeigt jedoch keine statistische Signifikanz. (Vgl. Abb. 6)

2-Phosphoglycerat

Die Dexamethasontherapie verursacht eine Abnahme des Gehalts an 2-Phosphoglycerat von im Mittel 13,41 $\pm$ 5,78 x 10^{-3} mMol/Kg auf 12,70 $\pm$ 6,78 x 10^{-3} mMol/Kg. Für diese Differenz ist keine statistische Signifikanz nachzuweisen. (Vgl. Abb. 5)

IV. Diskussion

1. Trauma

Wie die Ergebnisse früherer Arbeiten zeigen, kann davon ausgegangen werden, daß bei dem beschriebenen Verfahren zur Traumatisierung contusionelle Veränderungen im Gehirn der Tiere auftreten (HAUSDÖRFER 1977). Die etwa gleich großen Häufigkeiten der posttraumatischen Frakturen und Blutungen, sowie die vergleichbaren Letalitätsraten beweisen, daß im Vergleich der einzelnen Gruppen sowie innerhalb derselben, ein ähnliches Ausmaß an Traumen vorliegt, so daß Qualität und Quantität der contusionellen Schäden in der gleichen Größenordnung anzunehmen sind. Auf den über die unterschiedlich starke Muskelrelaxation variierend wirkenden Einfluß der Narkosetiefe wird im Kapitel Fehlerdiskussion hingewiesen.

2. Narkose

Mit Pentobarbital-Natrium findet ein Narkotikum Anwendung, das sich bei Tierexperimenten wie auch in der tierärztlichen Praxis gut zu handhaben zeigt. Lediglich die intraperitoneale Applikation zeigt gewisse Nachteile. Trotzdem darf nicht übersehen werden, daß Barbiturate bekanntermaßen mit zahlreichen Enzymsystemen in Wechselwirkung treten, und dadurch, über die Enzymaktivität auch den Gehalt an Substraten beeinflussen, wie die Messungen BERGMEYERS (1974) zeigen, die unterschiedliche Enzymaktivitäten und Substratkonzentrationen im Gewebe bei verschiedenen Narkotika nachweisen. Dieser Einfluß wird jedoch dadurch ausgeglichen, daß jedes Tier eine seinem Körpergewicht angepaßte Dosis des Narkotikums erhält. Der Einfluß der Barbiturate auf die absoluten Enzym- und Substratwerte kann so natürlich nicht vermieden werden, die Dexamethason-bedingten Veränderungen bleiben jedoch meßbar.
Die Auswirkungen der weiteren Interaktionen der Barbiturate sind wesentlich schwieriger abzuschätzen. Die

Depression der Herzfunktion, verbunden mit dem verminderten Atemantrieb, könnte sich zu den Wirkungen des Traumas addieren. Andererseits könnte sich die unspezifische Dämpfung zentralnervöser Funktionen, und damit verbunden, die Herabsetzung des cerebralen Energiebedarfs, protektiv auswirken. Die Annahme, daß die Applikation des Traumas unter Barbituratnarkose die Aussagefähigkeit der Ergebnisse nicht wesentlich beeinflußt, erscheint nach Abwägung der genannten Faktoren berechtigt.

3. Änderungen im Metabolismus

Nach einem mechanisch verursachten Schädel-Hirn-Trauma steht die Entwicklung des Hirnödems als klinisch erfaßbare Komplikation an erster Stelle. In der Pathogenese des Hirnödems ist als erster Schritt der Plasma- bzw. Blutaustritt durch die geschädigten Endothelien der Gefäße anzusehen. KLATZKO (1972) sieht in der Zunahme der cerebro-vaskulären Permeabilität für Proteine, und mit den Proteinen, für Wasser und Ionen den entscheidenden Mechanismus. Andere Autoren geben als Grund für die Extravasation die Zerstörung der junctionalen interzellulären Bindungen an (LONG et al. 1972). Aus den extravasal gelangten Erythrozyten und aus dislozierten Zellorganellen wie Mitochondrien und Endoplasmatischem Retikulum werden im weiteren Verlauf Metall-, insbesondere Eisenkomplexe freigesetzt, die als oxydierende bzw. peroxydierende Agentien gegen zelluläre und myelinhaltige Membranen auftreten (ORTEGA et al. 1972). Angriffspunkt sind insbesondere die ungesättigten Fettsäuren dieser Membranen. Von diesem aggressiven Mechanismus sind auch die Strukturen der Mitochondrien betroffen, wenn auch erst, nachdem die Barriere der zytoplasmatischen Membran durchbrochen ist. Die aufgezeigten Mechanismen beschränken sich jedoch nicht nur auf den Ort der traumatischen Schädigung, sondern, wie BENSON et al. (1970) zeigen können, breitet sich die Ödem-

flüssigkeit entlang anatomischer Strukturen aus, so daß sich der Mechanismus der Membranschädigung fortsetzen kann und eine gewisse Eigengesetzlichkeit entwickelt.

Die für den Energiestoffwechsel unerläßliche Funktionsfähigkeit der in der inneren Mitochondrienmembran angeordnete Elektronentransportkette hängt entscheidend von der Integrität der räumlichen Anordnung dieser Enzyme ab. So kommt es infolge der Zerstörung der Mitochondrienmembran zur Einschränkung der Produktion von energiereichen Phosphaten. Diese Überlegungen stehen in Einklang mit der von HAUSDÖRFER (1977) und REICHERT (1978) gefundenen Verminderung der ATP-Konzentration im Gefolge des Traumas. Diese Veränderung muß zwangsläufig zu einer Stimulation der Glykolose führen.
Um nun die Wirkungsweise des Dexamethasons beim Schädel-Hirn-Trauma zu untersuchen, werden die Konzentrationen der Glykolyseprodukte 2-Phosphoglycerat und Phosphoenolpyruvat sowie die Aktivität der Pyruvatkinase untersucht. Des weiteren werden Isocitrat und Malat als Vertreter des Citratcyclus bestimmt. Hier zeigt sich zunächst überraschenderweise keine signifikante Veränderung bei den Konzentrationen der Glykolyseprodukte, während die Aktivität der Pyruvatkinase unter Dexamethasontherapie signifikant abnimmt. Um die Vorgänge der Glykolyse beurteilen zu können, muß auch bekannt sein, welche Stoffwechselwege für ihr Endprodukt, das Pyruvat bestehen. Theoretisch existieren vier Möglichkeiten.

1. Der Umsatz zu Malat durch die decarboxylierende Malatdehydrogenase. Dieses auch als "Malic-Enzyme" bezeichnete Ferment kann bislang nur in der Leber nachgewiesen werden, so daß dieser Stoffwechselweg im Gehirn keine Bedeutung besitzen dürfte.
2. Die Hydrierung zu Lactat durch die Lactatdehydrogenase. Die Messungen von HAUSDÖRFER (1977) ergeben jedoch beim Meerschweinchen mit Schädel-Hirn-Trauma ohne Therapie keine ausreichenden Konzentrationen an Lactat. Mithin muß auch diesem Metabolismus eine we-

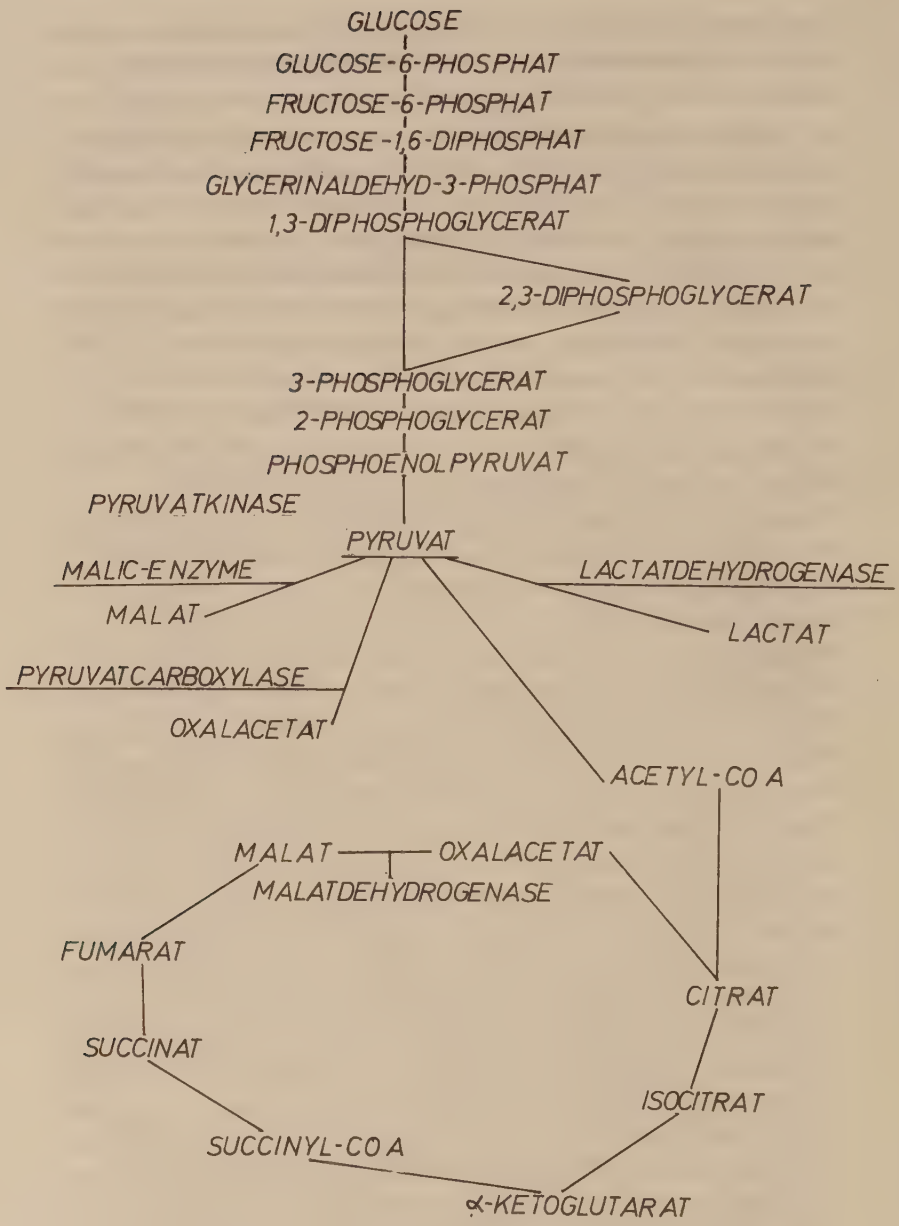

Abb.1: Glycolyse und Citratcyclus. Vereinfachtes Schema

sentliche Bedeutung abgesprochen werden.

3. Der Umsatz zu Oxalacetat durch die Pyruvatcarboxylase und damit die Umkehr der Glykolyse zur Glukoneogenese.
4. Die oxydative Decarboxylierung durch einen Enzymkomplex der Mitochondrien zu Acetyl-Coenzym A und Einschleusung in den Citratcyclus.

Die ersten beiden Stoffwechselwege werden aus den angegebenen Gründen in die weiteren Überlegungen nicht mit einbezogen.

Um das Ausmaß der oxydativen Decarboxylierung zu beurteilen, bietet sich als indirekte Meßmethode die Aktivitätsbestimmung der Malatdehydrogenase an, des Enzyms, das die Entstehung des Oxalacetats im Citratcyclus katalysiert. Oxalacetat ist im Citratcyclus das entscheidende Substrat, weil es die kürzeste Halbwertzeit aller Cyclussubstrate besitzt, und seine Konzentration somit geschwindigkeitsbestimmend für den ganzen Cyclus wird. Des weiteren besitzt Oxalacetat als Reaktionspartner für Acetyl-CoA bei dessen Einschleusung in den Citratcyclus eine Schlüsselfunktion am Beginn des oxydativen Abbaus des Glykolyseendprodukts Pyruvat unter aeroben Bedingungen. Rückwirkend bestimmt Oxalacetat die Aktivität der Malatdehydrogenase, so daß diese Aktivität ein Indikator für das Ausmaß der Pyruvatweiterverwendung im Citratcyclus wird.

Von den Glucokortikoiden ist bekannt, daß sie oxydative Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA, und somit den oxydativen Endabbau der Kohlenhydrate hemmen (BUDDECKE 1973). Damit steht unter Dexamethasontherapie weniger Acetyl-CoA zur Reaktion mit Oxalacetat bereit, dessen Konzentration sich erhöht und die Aktivität der Malatdehydrogenase vermindert. Diese Aktivitätsabnahme weist HOMANN (1981) bei traumatisierten Meerschweinchen unter Dexamethasontherapie nach. Des weiteren zeigt er, daß die Konzentration von Citrat unter Dexamethason signifikant abnimmt. Die eigenen

Messungen beweisen, daß Dexamethason die Konzentration von Isocitrat signifikant vermindert. Ein ähnliches Verhalten muß von den im Cyclus nachfolgenden Substraten angenommen werden. Erst gegen Ende des Cyclus macht sich die verminderte Malatdehydrogenaseaktivität anders bemerkbar. Wie nachgewiesen wurde, läßt sich die Konzentration von Malat durch Dexamethason kaum beeinflussen, da sein verminderter Umsatz zu Oxalacetat eine Konzentrationsabnahme, wie bei den Substraten am Beginn des Citratcyclus, verhindert. Insgesamt ergibt sich also für den Citratcyclus unter Dexamethasontherapie ein verminderter Durchsatz, dessen Ursache in erster Linie in der Hemmung der oxydativen Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA zu sehen ist.

Aus dieser Tatsache ergeben sich jedoch Konsequenzen für die Glykolyse. Da ihr Endprodukt, das Pyruvat, unter Dexamethasontherapie in geringerem Ausmaß Weiterverwertung im Citratcyclus findet, muß es entweder unter Umkehr der Glykolyse der Gluconeogenese zugeführt werden, oder seine Entstehung ist durch Hemmung der Glykolyse vermindert. Die gefundenen Meßergebnisse zeigen unveränderte Konzentrationen bei den Glykolysesubstraten 2-Phosphoglycerat und Phosphoenolpyruvat unter der Therapie, während die Aktivität der Pyruvatkinase signifikant abnimmt. Dies zeigt eindeutig, daß bei konstanten stationären Konzentrationen der Glykolysedurchsatz vermindert wird. Hierfür bestehen drei Erklärungsmöglichkeiten.

1. Ohne Therapie läuft die Glykolyse unter eher anaeroben Bedingungen ab. Unter dieser Voraussetzung ist die Bildung von ATP pro mol Glucose, und somit seine Konzentration, verringert, so daß eine ATP-bedingte Hemmung der Pyruvatkinase entfällt. Durch die Therapie wird die aerobe Glykolyse wieder möglich und die jetzt erhöhte ATP-Konzentration hemmt die Pyruvatkinase, so daß der Glykolysedurchsatz vermindert wird. Konsequenz wäre jedoch eine erhöhte Lactatkon-

zentration ohne Dexamethason, die aber nicht nachgewiesen werden kann (HAUSDÖRFER 1977).

2. Durch die protektive Wirkung des Dexamethasons auf Membransysteme (DEMOPOULOS 1972) bleibt die oxydative Phosphorylierung intakt, ein ATP-Mangel tritt nicht ein, und die durch einen ATP-Mangel stimulierte Erhöhung der Glykolyserate bleibt aus. Dieser Mechanismus kann sich bei posttraumatischer Dexamethasonapplikation nur in den Membranbezirken auswirken, die erst durch die Ausbreitung der Ödemflüssigkeit geschädigt werden.
3. Als weiteren Angriffspunkt wird eine direkte Hemmung der Pyruvatkinase in Betracht gezogen. Diese Dexamethasonwirkung läßt sich mit den vorliegenden Untersuchungen nicht eindeutig belegen.

Die Weiterverwertung des Pyruvats in der Gluconeogenese darf allerdings nicht ausgeschlossen werden, da eine induzierende Wirkung der Glucokortikoide auf die Enzyme der Gluconeogenese bekannt ist (BUDDECKE 1973).

Für die Glykolyse entsteht durch das Trauma also folgende Situation: der ATP-Mangel, verursacht durch die gestörte oxydative Phosphorylierung, führt zu einem erhöhten Durchsatz, welcher aber nicht in der Lage ist, den Bedarf an ATP zu decken. Dexamethason vermeidet oder vermindert durch den Erhalt der Atmungskette und, wie vermutet wird, durch direkten Angriff an der Pyruvatkinase diese übermäßige und letztlich auch ineffektive Steigerung der Glykolyse.

V. Zusammenfassung

Die untersuchten Parameter lassen Auswirkungen der Dexamethasontherapie auf die Glykolyse und den Citratcyclus im Gehirn traumatisierter Meerschweinchen erkennen. Es zeigt sich ein statistisch signifikanter Abfall der Pyruvatkinaseaktivität und der Konzentration von Isocitrat, während sich die Konzentrationen von 2-Phosphoglycerat und Phosphoenolpyruvat sowie die Malatkonzentration kaum verändern.
Dexamethason hält durch Stabilisierung der biologischen Membranen die Atmungskette intakt und sichert so eine ausreichende Bereitstellung von ATP. Dadurch wird eine durch ATP-Mangel induzierte Steigerung der Glykolyse vermieden. Die Hemmung der Pyruvatkinase wird als weiterer regulativer Eingriff in die Glykolyse vermutet.
Über die Hemmung der oxydativen Decarboxylierung reduziert Dexamethason die Einschleusung von Glykolyseendprodukten und den Durchsatz im Citratcyclus.
Die gefundenen Ergebnisse werden dahingehend interpretiert, daß Dexamethason die traumatisch bedingte Steigerung der Glykolyse und des Citratcyclus in Richtung auf das physiologische Maß zurückführt. Zur weiteren Klärung des Problems wäre die gezielte Untersuchung der Dexamethasonwirkung auf einzelne Enzyme der Glykolyse und des Citratcyclus in vitro erforderlich.

VI. Graphische Darstellung

Die schraffierten Säulen stellen die Werte unter Dexamethasontherapie dar.

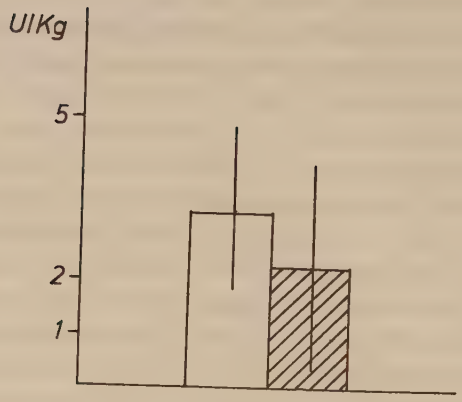

Abb. 2: Pyruvatkinase

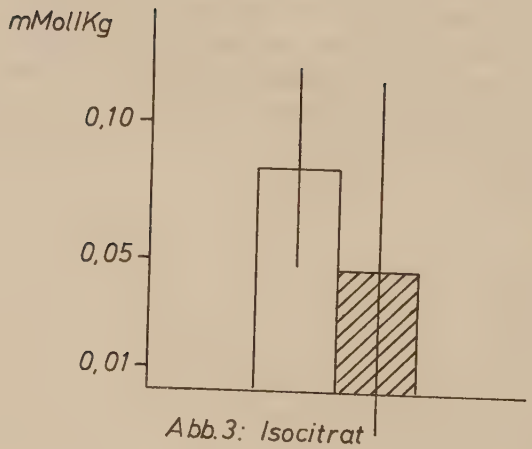

Abb. 3: Isocitrat

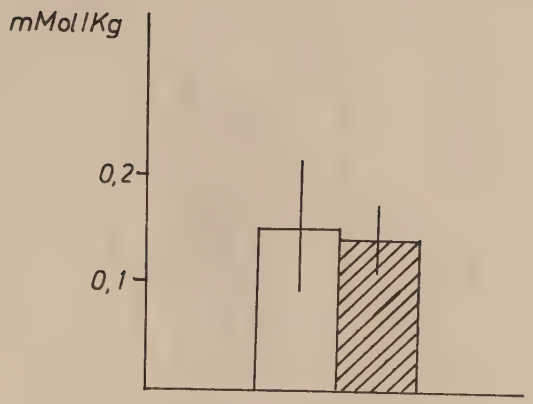

Abb. 4: Malat

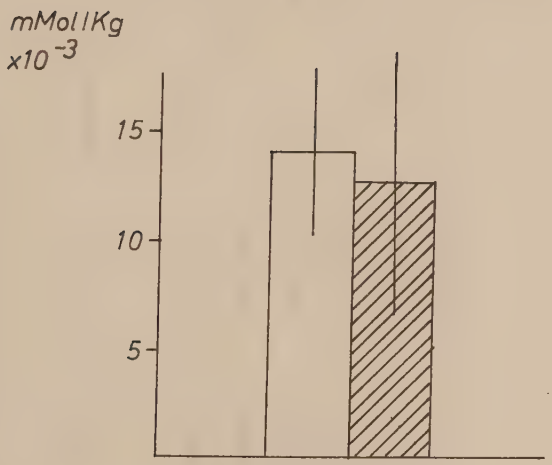

Abb.5: 2-Phosphoglycerat

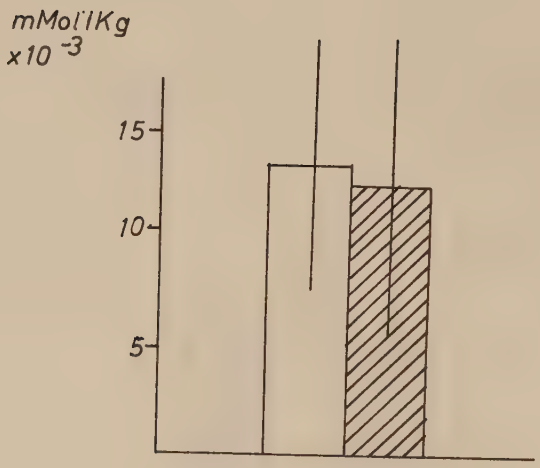

Abb. 6: Phosphoenolpyruvat

VII. Tabellarische Übersicht

Param.	Einheit	Anzahl	$\bar{x}$	S	Anzahl	$\bar{x}$	S	p	signifikant
			ohne Dexamethason			mit Dexamethason			
PK	U/Kg	36	3,23	1,46	36	2,17	1,90	0,02	ja
Isocit.	mMol/Kg	33	0,083	0,036	35	0,044	0,079	0,001	ja
Malat	mMol/Kg	33	0,151	0,064	35	0,144	0,027	-	nein
PEP	mMol/Kg x 10^{-3}	36	13,99	3,87	36	12,73	6,32	-	nein
2-PG	mMol/Kg x 10^{-3}	36	13,41	5,78	36	12,70	6,78	-	nein

VIII. Literaturverzeichnis

Akmaev, I. G.; Fidelina, O. V.; Radchenko, I. V.; Konovalova, L. K.:
Gistokhimicheskoe Issledovanie Tanitsitov V Cviazi S Adrenokortikotrovno'i Funktsie'i Gipofiza (Histochemical Study of Tanycytes in Connection with the Adrenocorticotropic Function of the Hypophysis).
Probl. Endokrinol. (Mosk) 21, 63 - 67 (1975)

Barlow, C. F.:
Physiology and Pathophysiology of Protein Permeability in the Central Nervous System.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 139 - 146

Benson, V. M.; McLaurin, R. L.; Foulkes, E. C.:
Traumatic Cerebral Edema.
Arch. Neurol. (Chic.) 23, 179 - 186 (1970)

Bergmeyer, H. U.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
3. Aufl., Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie 1974

Bouzarth, W. F.; Shenkin, H. A.:
Possible Mechanism of Action of Dexamethasone in Brain Injurie.
J. Trauma 14, 134 - 136 (1974)

Buddecke, E.:
Grundriß der Biochemie.
3. Aufl., Berlin, New York: de Gruyter 1973

Capon, A.; Hildebrand, J.; Verbist, A.; Fruhling, J.; Baleriaux, D.:
Changes in regional cerebral blood flows produced by Dexamethasone in patients with brain metastases.
Acta neurol. belg. 76, 325 - 330 (1976)

Clasen, R. A.; Hindo, W. A.; Pandolfi, S.; Laing, I.:
The Role of Necrosis and Inflammation in the Response of Cerebral Edema to Steroids.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 157 - 166

Clasen, R. A.; Cooke, P. M.; Pandolfi, S.; Carnecki, G.; Hass, G. M.:
Steroid-Antihistaminic Therapie in Experimental Cerebral Edema.
Arch. Neurol. (Chic.) 13, 584 - 592 (1965)

Demopoulos, H. B.; Milvy, P.; Kakari, S.; Ransohoff, J.:
Molecular Aspects of Membrane Structure in Cerebral Edema.
In: Steroids and Brain Edema.
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 29 - 40

Dick, R. A.; McCallum, M. E.; Maxwell, J. A.; Nelsen, S. R.:
Effects of Dexamethasone on Experimental Brain Edema in Cats.
J. Neurosurg. 45, 141 - 147 (1976)

Diemath, H. E.:
Zur Behandlung des traumatischen Hirnödems.
Z. Allg. Med. 51, 869 - 871 (1975)

Ford, W.; Henschler, D.; Rummel, W.:
Pharmakologie und Toxikologie.
2. Aufl., Mannheim, Wien, Zürich: Bibliographisches Institut 1977

Galicich, J. H.; French, L. A.:
Use of Dexamethasone in the Treatment of Cerebral Edema Resulting from Brain Tumors and Brain Surgery.
Amer. Practit. (Philad.) 12, 169 - 174 (1961)

Hausdörfer, J.:
Schädel-Hirn-Trauma und Enzymveränderungen.
München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg 1977

Homann, Ch.:
Der Einfluß von Dexamethason auf Stoffwechselparameter und Enzyme im Gehirngewebe.
Tübingen: Inaugural-Dissertation 1981

Hossmann, K. A.; Olsson, Y.:
Functional Aspects of Abnormal Protein Passage Across the Blood-Brain-Barrier.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 9 - 18

Jatzkewitz, H.:
Neurochemie.
Stuttgart: Thieme 1978

Karlson, P.:
Biochemie.
9. Aufl., Stuttgart: Thieme 1974

Klatzko, I.:
Pathophysiological Aspects of Brain Edema.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 1 - 8

Klingler, M.:
Das Schädel-Hirn-Trauma.
Stuttgart: Thieme 1968

Kollegium Biomathematik NW:
Biomathematik für Mediziner.
2. Aufl., Berlin Heidelberg, New York: Springer 1976

Kopczynski, S.; Kurzaj, E.; Lipinska, D.:
The Effect of Corticosteroids on the Brain Metabolism in a Suprarenal Pathology.
Farmakol. i. Toksikol. 35, 329 - 333 (1972)

Long, D. M.; Maxwell, R. E.; French, L. A.;
The Effects of Glucosteroids upon Experimental Brain Edema.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 65 - 76

Mahler, H. R.; Cordes, E. H.:
Biological Chemistry.
New York, Evanston, San Francisco, London:
Harper & Row 1971

Myllylä, V. V.:
Effect of Cerebral Injury on Cerebrospinal Fluid Cyclic AMP Concentration.
Eur. Neurol. 14, 413 - 425 (1976)

Nelson, S. R.:
Effects of Drugs on Experimental Brain Edema in Mice.
J. Neurosurg. 41, 193 - 199 (1974)

Neuefeldt, D.; Herrmann, H. D.; Loew, F.:
The Influence of Dexamethasone on the Blood-Brain-Barrier and Water Content in Experimental Brain Edema.
Acta neurochir. (Wien) 30, 51 - 57 (1974)

Ortega, B. D.; Demopoulos, H. D.; Ransohoff, J.:
Effects of Antioxidants on Experimental Cold-Induced Cerebral Edema.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 167 - 176

Pflanzagl, J.:
Allgemeine Methodenlehre der Statistik I und II.
5. bzw. 4. Aufl., Berlin: de Gruyter (1972/1974)

Reichert, W.:
Das Verhalten von Serumenzymen, Stoffwechselparametern und Blutgasanalyse beim Meerschweinchen nach Applikation eines isolierten Schädel-Hirn-Traumas und seiner Therapie mit Dexamethason.
Tübingen: Inaugural-Dissertation 1978

Seitz, H. D.; Hirschauer, M.; Metzel, E.; Schrader, H.; Zimmermann, W. E.; Krainick, J. U.; Mundinger, F.:
Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen zum Hirnstoffwechsel und zur Hirndurchblutung beim Schädel-Hirn-Trauma.
Neurochirurgica 15, 201 - 209 (1972)

Siegel, B. A.; Studer, R. K.; Potchen, E. J.:
Effect of Dexamethasone on Triethyl-Tin Induced Brain Edema and the Earla Edema in Cerebral Ischemia.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 113 - 121

Suchenwirth, R. M. A.:
Medikamentöse Therapie neurologischer Erkrankungen.
Z. Allg. Med. 14, 774 - 182 (1978)

Struck, H.:
Experimentelle Medizin.
Stuttgart: Thieme 1973

Tornheim, P. A.; McLaurin, R. L.:
Effect of Dexamethasone on Cerebral Edema from Cranial Impact in the Cat.
J. Neurosurg. 48, 220 - 227 (1978)

Tornheim, P. A.; McLaurin, R. L.:
Effect of Dexamethasone on the Brain Edema of Cranial Impact.
Surg. Neurol. 5, 485 - 487 (1976)

Tutt, H. P.; Pappius, H. M.:
Studies on the Mechanism of Action of Steroids in Traumatized Brain.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 147 - 152

Waldron, R. L.; Bridenbaugh, R. B.; Dempsey, E. W.:
Alterations at the Cellular Level in the Brain Following Pepeated Angiography: Protective Effect of Corticosteroids.
J. Canad. Ass. Radiol. 26, 82 - 87 (1975)

Wellhöhner, H. H.:
Pharmakologie und Toxikologie.
2. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1976)

Wieck, H. H.:
Chronische zerebro-vaskuläre Insuffizienz.
Z. Allg. Med. 12, 694 - 700 (1978)

Withrow, C. D.; Woodbury, D. M.:
Some Aspects of the Pharmakology of Adrenal Steroids and the Central Nervous System.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 41 - 54

L e b e n s l a u f

Am 16. März 1951 wurde ich, Eckhard Göritz, als Sohn des Richard Göritz und der Edith Göritz in Eberswalde geboren. Von 1957 bis 1961 besuchte ich die Volksschulen in Schrozberg und Stetten. 1961 wechselte ich an das Wilhelmsgymnasium in Stuttgart, wo ich 1970 das Abitur ablegte. Nach Ableisten des Wehrdienstes von 1970 bis 1972, arbeitete ich in einem Zahntechnischen Labor, bis ich 1974 einen Studienplatz in Chemie erhielt. Mein Medizinstudium begann ich 1975 in Tübingen und schloß es mit der Ärztlichen Prüfung am 13. April 1981 ab.